

B29

V 型コラーゲンは腎系球体発生・再生における過渡的環境を演出する

○村澤裕介

(筑波大学応用生物化学系)

発生・再生時、細胞が可塑性やダイナミズムを必要とするとき、変化に対応し、時間軸に沿って変遷する細胞外環境が必要である。本研究では、不安定かつ過渡的に働く、V 型コラーゲン ECM の重要性を提示するとともに、新規細胞外環境構築の可能性を提起した。V 型コラーゲンは腎系球体発生組織に一過的に高発現する ECM であることが知られている。本研究では、V 型が腎発生において、どのような役割を、どのようなシステムで果たしているかを解明、腎系球体細胞に V 型繊維がもたらす役割を明確化した。初代培養から単離した豚腎系球体内皮細胞 (GEN) を用い、豚角膜から精製した V 型コラーゲン分子と、それを再構成した V 型繊維上で培養し、細胞内タンパクの局在、量的変化を調べた。次に、マウス胎児から腎発生組織を単離、V 型繊維上で培養、V 型の役割を調べた。結果：成熟接着形成時に重合するパキシリンが長期に渡り V 型上 GEN で発現せず、未成熟接着が確認された。細胞の動性を誘導するセリンリン酸化パキシリンは、V 型繊維状 GEN で高発現するのに対し、チロシンリン酸化 FAK、チロシンリン酸化パキシリンの発現が抑えられ、成熟接着を形成するタンパク複合体形成の障害が判明、V 型繊維が GEN に足場不安定性と細胞運動上昇を誘起するシステムを明らかにした。一方、発生系で V 型が間充織の上皮シフトなど分化時に介在することが示唆された。以上、V 型コラーゲン繊維は発生・再生における過渡的環境演出 ECM としての役割を持つことを提起した。

The role of type V collagen at the transitional stage of developmental kidney

Yusuke Murasawa

(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

B30

移植三次元培養皮膚モデルにおける弾性線維成分の発現と線維再構築

○小倉 有紀, 坪 信子, 天野 聡

(株式会社資生堂 ライフサイエンス研究センター)

【目的】皮膚の弾力性には、弾性線維が重要な役割を果たしている。弾性線維は、fibrillin-1 などが重合して形成された microfibril に添って tropoelastin が集合配列し、さらに lysyloxidase により分子間に架橋が形成され、不溶性 elastin が形成される。今回、我々は、皮膚における弾性線維の再構築を解析することを目的として、ヒト三次元培養皮膚モデルをヌードマウスに移植し、弾力線維構造形成を観察した。

【対象ならびに方法】ヒト線維芽細胞を含む収縮コラーゲンゲル (真皮モデル) 上にヒトケラチノサイトを播種し、気相に曝すことによってヒト三次元培養皮膚モデルを作製し、背部皮膚を切除したヌードマウス (BALB/c-nu/nu) に移植した。弾性線維関連因子 (tropoelastin, fibrillin-1, lysyloxidase) のタンパク発現を免疫染色、遺伝子発現を Taq-ManPCR 法にて解析した。

【結果】皮膚モデルを3週間培養しても弾力線維は形成されなかった。しかし、皮膚モデルを移植し、ヒト由来の表皮と真皮の細胞が生存した場合、移植2ヶ月後には、ヒト由来の elastin, fibrillin-1 で構築された弾性線維が観察された。弾力線維成分の遺伝子発現を定量した結果、移植前の皮膚モデルでは培養線維芽細胞、真皮モデルと比較して、tropoelastin 遺伝子の発現は顕著に低下していたが、fibrillin-1、lysyloxidase の遺伝子発現はほぼ同レベルであった。一方、移植皮膚モデルでは、tropoelastin 遺伝子の発現が上昇し、fibrillin-1、lysyloxidase の遺伝子発現も高いレベルに維持されていた。

【結論】ヒト培養皮膚モデルをヌードマウスに移植する実験系はヒト弾力線維の再構築を解析するのに良いモデルであることが明らかとなった。

Analysis of expression and restructuring of elastic fiber in grafted skin-equivalent model.

Yuki Ogura, Nobuko Akutsu, Satoshi Amano

(SHISEIDO LIFE SCIENCE RESEARCH CENTER)